

Article principal
recouvrant en partie

la T H E S E présentée
pour l'obtention

du grade de D O C T E U R E S S C I E N C E S

à l' Université de Paris VI

par

Jacob BOUHNIK

Sujet de la Thèse:

"Recherches sur la spécificité des hormones thyroïdiennes et de croissance sur les propriétés et la biosynthèse des constituants protéiques subcellulaires".

soutenue le 20 Décembre 1971.

devant la commission d'examen composée de :

Monsieur A. JOST	Président
Monsieur F. CHAPEVILLE	Examineur
Monsieur R. MICHEL	

Synthèses et activités biologiques des dérivés thyroïdiens et adrénérgiques

XIV. Croissance et ARN polymérase hépatique du rat thyroïdectomisé traité chroniquement aux hormones thyroïdiennes et effets de l'adrénaline sur le métabolisme basal

RAYMOND MICHEL, JACOB BOUHNİK,¹ ET ODETTE MICHEL

*Endocrinologie, Faculté de Pharmacie, Paris, et Biochimie Générale et Comparée,
Collège de France, Paris*

Reçu le 24 avril 1969

Les hormones thyroïdiennes activent à la fois la calorigénèse et la biosynthèse protéique. Afin de déterminer si ces effets sont indépendants ou si l'un résulte de l'autre, nous avons comparé l'influence qu'exercent la L-thyroxine (T_4), la 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T_3) ou l'acide 3,5,3'-triiodothyroacétique (TA_3) sur l'activité de l'ARN polymérase hépatique stimulée par Mg^{2+} , sur le métabolisme basal et sur la croissance.

1. L'administration chronique d'une dose de TA_3 aux rats thyroïdectomisés, qui assure par rapport aux témoins une croissance presque normale et un métabolisme basal supérieur, ne restaure que partiellement l'activité ARN polymérasique.

2. Le comportement de T_4 et T_3 à doses physiologiques est qualitativement et quantitativement le même sur les trois paramètres étudiés, dans les conditions expérimentales adoptées qui sont les mêmes pour les deux hormones bien qu'elles soient métabolisées à des vitesses différentes.

3. L'activité ARN polymérasique est considérablement plus faible chez l'animal hypophysectomisé que chez le thyroïdectomisé. Cette différence ne traduit sans doute pas une suppression totale de l'hormone somatotrope après hypothyroïdie prolongée ; par conséquent, l'effet sur l'ARN polymérase du rat thyroïdectomisé procède surtout du défaut en hormones iodées.

4. L'action calorigénique de l'adrénaline qui n'a plus lieu chez le rat hypothyroïdien ne réapparaît que partiellement chez l'animal recevant de faibles quantités de produits iodés. Il existe une assez bonne corrélation entre l'activité de l'ARN polymérase et la croissance, alors que le fonctionnement des mitochondries hépatiques isolées est relativement indépendant de l'état thyroïdien.

Experiments were performed in order to study if calorigenesis and protein synthesis, both stimulated by thyroid hormones, are influenced independently or if one phenomenon proceeds from the other. The effects of L-thyroxine (T_4), 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T_3), 3,5,3'-thyroacetic acid (TA_3) on growth; BMR and hepatic DNA-dependent RNA polymerase Mg^{++} activated were compared.

1. Chronic administration of TA_3 to thyroidectomized rats at a dose promoting almost normal growth and higher BMR induced a partial RNA polymerase activity.

2. In defined experimental conditions and at same physiological doses T_4 or T_3 affected similarly BMR, growth and enzyme activity but it must be considered that half-life of the two hormones is different.

¹Cet article fait partie d'un travail destiné à une thèse de Doctorat ès Sciences (Endocrinologie) qui sera soutenue devant la Faculté des Sciences de Paris.

3. Hypothyroidism seemed unable to suppress completely the effect of somatotropine secretion on RNA polymerase for the enzymic response was much more reduced in hypophysectomized than in thyroidectomized rats. Therefore it appeared that the decrease of RNA polymerase activity was essentially due to the absence of thyroid hormone.

4. Calorigenic action of epinephrine abolished after thyroidectomy was not re-established to a normal level when small doses of thyroid derivatives were injected chronically, meanwhile isolated rat liver mitochondria respiration was, in same experimental conditions, relatively independent of the thyroid status.

Les hormones thyroïdiennes favorisent la croissance et activent la calorigénèse ; ces effets sont vraisemblablement la résultante d'activités élémentaires, lesquelles se manifestent pour l'une principalement au niveau nucléaire, pour l'autre surtout au niveau mitochondrial.

Plusieurs faits permettent de penser que l'influence hormonale s'exerce sur ces deux organites sub-cellulaires. En ce qui concerne les mitochondries, on a montré d'une part que lorsqu'elles sont isolées à partir de tissus d'animaux hypothyroïdiens elles respirent plus faiblement que celles provenant de témoins normaux (Hoch, 1962 ; Tata *et al.*, 1963) et, d'autre part, que les iodothyronines stimulent l'oxydation des substrats quand les particules sont placées dans l'état 4, c'est-à-dire sans ADP, et l'inhibent quand elles sont dans l'état 3, c'est-à-dire en présence d'accepteur de phosphate (Michel et Leblanc, 1969). Quant aux noyaux, on a mis en évidence qu'un de leurs enzymes, l'ARN polymérase dépendant de l'ADN présente une activité diminuée chez l'animal thyroidectomisé, alors qu'elle est restaurée après administration de 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (Tata et Widnell, 1966). On peut se demander s'il existe ou non un lien direct entre ces diverses données. Dans la première éventualité, l'effet initial sur l'une des particules se répercuterait sur l'autre ; dans la seconde, les manifestations seraient autonomes, abstraction faite des mécanismes de régulation et de contrôle.

Afin d'essayer d'apporter une contribution à l'étude de ce problème, nous avons suivi dans une première série d'expériences, dans des conditions physiologiques, l'évolution de la croissance et les variations de la consommation d'oxygène chez des rats normaux, thyroidectomisés ou traités avec

des produits thyroïdiens à doses variables mais faibles. Nous avons mesuré l'activité de l'ARN polymérase hépatique dépendant de l'ADN après activation au Mg^{2+} et déterminé l'intensité des réactions oxydophosphorylantes. Comme chez l'animal hypophysectomisé on constate également une diminution de l'activité de l'enzyme nucléaire (Widnell et Tata, 1966) et que le rat hypothyroïdien présente un déficit en hormone de croissance dans l'antéhypophyse (Lewis *et al.*, 1965 ; Daughaday *et al.*, 1967 ; Escobar del Rey *et al.*, 1968), on peut se demander si la baisse de l'activité ARN polymérasique provient seulement de l'hypothyroïdie ou, à la fois, de l'absence d'iodothyronines et de la diminution de l'hormone somatotrope. Pour vérifier ces faits, nous avons entrepris une deuxième série d'expériences où nous avons mesuré l'activité de l'ARN polymérase chez les rats hypophysectomisés et thyroidectomisés et chez ceux traités chroniquement avec une dose faible de thyroxine.

Enfin, nous avons étudié l'effet calorigénique de l'adrénaline lequel est supprimé chez l'animal hypothyroïdien, mais réapparaît après administration de fortes doses de poudre de thyroïde ou de thyroxine (Nakayama, 1925 ; Issekutz et Harangozo-Oroszy, 1942 ; Schaeffer et Thibault, 1945 ; Swanson, 1956). Nous avons repris ce travail mais en utilisant de faibles quantités d'iodothyronines et d'acide 3,5,3'-triiodothyroacétique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous exposerons successivement : le traitement des animaux, la détermination de leur croissance et de leur métabolisme basal, puis les mesures des activités particulières.



Traitement

Des rats ♂ Wistar, thyroïdectomisés chirurgicalement à 50 g et divisés en groupes de 10 animaux de même poids au départ, reçoivent dès le lendemain de l'opération et quotidiennement des doses variables de L-thyroxine (T_4), de 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T_3) ou d'acide 3,5,3'-triiodo-thyroacétique (TA_3), ces produits étant dissous dans un minimum de NaOH 0.1 N et dilués par NaCl à 9 g par litre. Les rats témoins (N) ou thyroïdectomisés (Thx) sont injectés avec l'excipient. Pendant les 15 premiers jours qui suivent l'intervention, les rats opérés reçoivent de l'eau contenant du lactate de Ca à 5 g par litre.

Une autre série de rats ♂ Wistar de 150 à 160 g est hypophysectomisée par voie pharyngée ; 4 jours après cette première opération, les animaux sont thyroïdectomisés chirurgicalement ; 12 d'entre eux sont alors traités avec 0.25 μ g par 100 g et par jour de T_4 , 12 autres avec l'excipient. Pendant toute la durée de l'expérience, les animaux hypophysectomisés et thyroïdectomisés (Hx-Thx) reçoivent comme boisson de l'eau contenant 40 g par litre de saccharose et 9 g par litre de NaCl. Des rats normaux et thyroïdectomisés de même poids servent de témoins.

Croissance

Les animaux maintenus à une température constante ($28^\circ \pm 1^\circ\text{C}$) sont pesés tous les jours. Lors du sacrifice, l'absence de restes thyroïdiens est vérifiée au moyen de radioiode. Les rats reçoivent 0.5 μ Ci Na^{125}I traceur par voie intrapéritonéale. Les thyroïdes chez les normaux, ou la région trachéenne pour les rats thyroïdectomisés, sont prélevées 2 h 30 après l'injection. Les animaux non opérés fixent 5 à 10% de la radioactivité totale dans leur thyroïde ; les hypothyroïdiens témoins ou traités, dont la région trachéenne contenait le double ou plus de la radioactivité fixée par un fragment musculaire de même poids, soit 0.5% de la radioactivité injectée, sont éliminés. L'hypophysectomie totale est vérifiée par examen histologique de la selle turque.

Métabolisme basal

La consommation d'oxygène est mesurée sur des rats à jeun depuis 18 h à $29^\circ \pm 0.1^\circ\text{C}$ et après équilibre de température. Les essais sont conduits soit à l'aide d'un appareil à circuit fermé muni d'une électrode à oxygène, où les rats sont groupés par 3 et le métabolisme basal enregistré pendant des périodes de 5 minutes, soit au moyen d'un appareil de Bargeton où les mesures sont effectuées rat par rat (Bargeton et Krumm-Heller,

1948). Ces dernières sont réalisées à plusieurs reprises afin de s'assurer de leur constance et de permettre une estimation statistique. Au cours des expériences avec l'adrénaline, administrée en sous-cutané à raison de 70 μ g par 100 g, la respiration des rats est enregistrée tous les quarts d'heure.

ARN polymérase

L'activité de l'ARN polymérase dépendant de l'ADN est déterminée sur des noyaux hépatiques préparés selon la technique de Widnell et Tata (1964) à partir de 3 à 4 animaux. Les foies sont homogénéisés dans du saccharose 0.32 M contenant du MgCl_2 (3 mM) ; après filtration sur gaze de nylon, l'homogénat ramené à une concentration 0.25 M est centrifugé pendant 10 minutes à 700g. Le culot est remis en suspension avec du saccharose 2.4 M + MgCl_2 (1 mM) et centrifugé à 50 000g dans une centrifugeuse Spinco pendant 1 heure. Les noyaux sédimentés sont portés à 1 ml au moyen de saccharose 0.25 M + MgCl_2 (1 mM). Toutes ces opérations sont conduites à froid (2°C environ). L'examen microscopique des préparations montre que les particules ne sont pas lésées. Le milieu d'incubation de la réaction activée par Mg^{2+} comprend : 0.1 M Tris HCl pH 8.5, 5 mM MgCl_2 , 20 mM cystéine, 6 mM NaF, 0.6 mM GTP, CTP et UTP, 39 μ M ATP ^{14}C marqué par 1 μ M ATP ^{14}C d'activité spécifique de 280 μ Ci par μ mole et 0.1 ml par essai de la suspension nucléaire contenant environ 0.25 mg ADN ; le volume total est de 0.5 ml (Tata et Widnell, 1966). Au cours de certaines expériences nous avons réalisé avec la même préparation nucléaire le marquage de l'ARN, d'une part avec l'ATP ^{14}C comme indiqué plus haut, d'autre part avec GTP ^{14}C en présence des 3 autres nucléotides non marqués. Après 15 minutes d'incubation à 37°C , on ajoute 0.2 ml d'une solution de sérumalbumine bovine à 1%, puis la réaction est arrêtée avec de l'acide trichloracétique à 10% contenant du pyrophosphate de Na (0.02 M). Après centrifugation, le culot est lavé avec l'acide trichloracétique (5%) puis dissous par 1 ml d'une solution saturée de $\text{Na}(\text{NH}_4)\text{HPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ à 37°C pendant 5 minutes. On reprécipite ensuite au moyen d'acide trichloracétique à 10% (Busch *et al.*, 1962). On effectue le comptage de l'ARN marqué au ^{14}C selon Moulé (communication personnelle) après redissolution du précipité avec 0.2 ml de NaOH 1 N et chauffage à 37° pendant 10 minutes, et on ajoute 3 ml d'hydroxyde d'hyamine, 1 ml $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 0.2 ml CH_3COOH et 10 ml de toluène scintillant (PPO 5 %₀₀, POPOP 0.5 %₀₀). La radioactivité

mesurée dans un compteur à scintillation liquide TriCarb est rapportée au mg d'ADN, lequel après son extraction de la suspension nucléaire (Tata et Widnell, 1966) est dosé selon la technique de Burton (1956).

Oxydations phosphorylantes des mitochondries

Les mitochondries hépatiques provenant de rats normaux, opérés ou traités sont préparées selon la technique de Schneider et Hogeboom (1950) partiellement modifiée (Roche *et al.*, 1962). Elles sont conservées à 0°C dans du saccharose 0.25 M. La consommation d'oxygène et la phosphorylation de ces particules sont mesurées grâce à un oxygraphe GME, muni d'une électrode vibrante, selon les conditions précédemment décrites (Michel et Leblanc, 1969) et en présence de succinate 6.6 mM comme substrat.

RÉSULTATS

La croissance pondérale des rats est illustrée par des courbes, la consommation d'oxygène et les activités enzymatiques font l'objet de tableaux.

Effets comparés de l'acide triiodothyroacétique (TA₃) sur la croissance, le métabolisme basal et l'ARN polymérase du rat thyroïdectomisé

L'activité de l'ARN polymérase, diminuée d'environ 50% chez l'animal thyroïdectomisé, est restaurée à 91% après injection de 25 µg par 100 g de TA₃, 36 heures avant le sacrifice ; cette différence avec les témoins normaux n'est pas statistiquement significative. Le métabolite acétique s'est révélé inactif au cours d'essais *in vitro* après 15 ou 30 minutes d'incubation. L'effet *in vivo* de TA₃ sur l'ARN polymérase du rat thyroïdectomisé permet de suggérer qu'il est susceptible d'influencer sa croissance.

La Fig. 1 illustre la prise de poids du rat thyroïdectomisé lorsqu'il est traité chroniquement avec 1 ou 5 µg par 100 g et par jour de TA₃. Avec 1 µg, nous avons déjà un effet appréciable puisque la valeur moyenne des poids et l'écart type à la fin du traitement sont de 164 g ± 31 alors que les animaux non traités sont à 144 g ± 17 ; cependant cette différence n'est pas significative statistiquement ; 5 µg de ce dérivé iodé assurent un poids moyen de

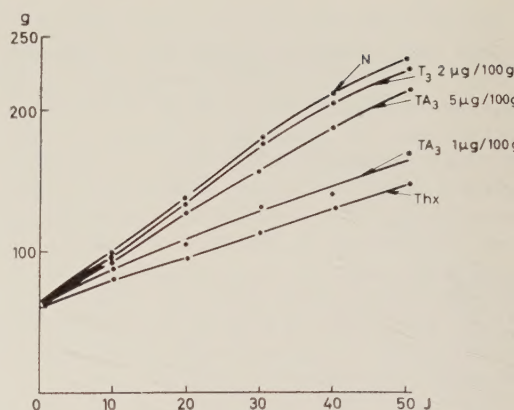


FIG. 1. Croissance pondérale des rats normaux (N), thyroïdectomisés (Thx) et thyroïdectomisés traités avec TA₃ (1 ou 5 µg/100 g/jour) ou T₃ (2 µg/100 g/jour).

209 g ± 22. La différence avec les rats normaux injectés est hautement significative ; elle ne l'est pas avec les témoins normaux qui pèsent 233 g ± 22, ce qui suppose que la croissance est presque revenue à la normale. Sur la même courbe, 2 µg de T₃ administrée à titre d'hormone de référence donnent un poids moyen de 222 g ± 24. La Fig. 2

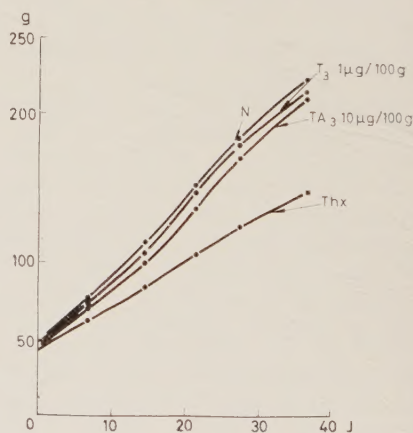


FIG. 2. Courbes illustrant la croissance des rats normaux (N), thyroïdectomisés (Thx) et thyroïdectomisés traités avec T₃ (1 µg/100 g/jour) ou TA₃ (10 µg/100 g/jour).

traduit l'influence de 10 µg par 100 g de TA₃ utilisé au cours d'une autre expérience. A cette dose, la croissance du rat opéré est restaurée à 95%, soit 210 g ± 20 alors que les témoins normaux sont à 223 g ± 26 ; la

différence entre ces deux valeurs n'est pas significative statistiquement. La consommation d'O₂ des animaux recevant le métabolite acétique dépasse de 18% celui des rats normaux ; par contre, l'ARN polymérase n'est rétablie qu'à 77% (Tableau 1). Enfin, il ressort de la Fig. 4

TABLEAU 1
CONSOMMATION D'OXYGÈNE ET ACTIVITÉ ARN
POLYMÉRASIQUE CHEZ LE RAT SOUMIS À
DIVERS TRAITEMENTS 4 ET 5 SEMAINES
APRÈS THYROÏDECTOMIE^a

Traitement	Métabolisme basal	ARN polymérase
Normaux	100	100
Thyroidectomisés (Thx)	70 (a ₁)	46 (a ₂)
Thx + T ₃ 1 µg	117 (b ₁)	93 (b ₂)
Thx + TA ₃ 10 µg	118 (c ₁)	77 (c ₂)

^a Les valeurs sont exprimées en % par rapport aux normaux. $p < 0.01$ pour a₁, b₁, c₁ ; $p < 0.01$ pour a₂ ; p pas significatif pour b₂ ; $p < 0.05$ pour c₂.

B que 2.5 µg de TA₃ assurent un poids moyen de 266 g ± 28, les rats opérés non traités étant à 199 g ± 24 ; la différence est statistiquement significative. Le métabolisme basal mesuré après 8 semaines de traitement est restauré à 94% et l'ARN polymérase à 66% (Tableau 3).

Effets comparés de T₃ sur la croissance, le métabolisme basal et l'ARN polymérase du rat thyroïdectomisé

Des essais préliminaires utilisant 2 µg par 100 g et par jour de T₃ permettent de considérer que cette quantité d'hormone couvre largement les besoins physiologiques (Fig. 1), car 1 µg assure déjà une croissance sensiblement normale (95%) chez l'animal thyroïdectomisé, soit 210 g ± 34 au lieu de 223 g ± 26 chez le normal (Fig. 2). Le métabolisme basal des animaux traités avec 1 µg est supérieur de 17% à celui des témoins de référence et l'ARN polymérase est ramenée à 93% (Tableau 1). Avec 0.5 et 0.25 µg par 100 g de cette iodothyronine, la croissance est augmentée d'une manière significative soit respectivement 271 g ± 27 et 261 g ± 17, alors que les animaux non traités sont à 178 g ± 38. La différence de

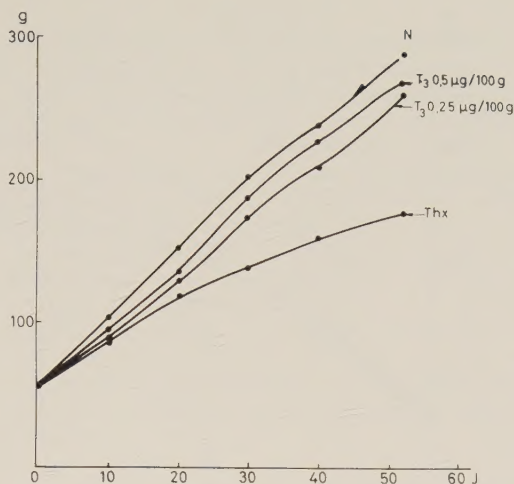


FIG. 3. Courbes illustrant la croissance des rats normaux (N), thyroïdectomisés (Thx) et thyroïdectomisés recevant T₃ (0.5 ou 0.25 µg/100 g/jour).

poids avec les témoins qui sont à 288 g ± 23 n'est significative qu'avec 0.25 µg de T₃ (Fig. 3). Le métabolisme basal atteint 111 et 92% de la normale et l'ARN polymérase 78 et 74% respectivement pour 0.5 et 0.25 µg de l'hormone (Tableau 2).

TABLEAU 2
CONSOMMATION D'OXYGÈNE ET ACTIVITÉ ARN
POLYMÉRASIQUE CHEZ LE RAT SOUMIS À
DIVERS TRAITEMENTS 7 SEMAINES APRÈS
THYROÏDECTOMIE^a

Traitement	Métabolisme basal	ARN polymérase
Normaux	100	100
Thyroidectomisés (Thx)	65 (a ₁)	51 (a ₂)
Thx + T ₃ 0.5 µg	111 (b ₁)	78 (b ₂)
Thx + T ₃ 0.25 µg	92 (c ₁)	74 (c ₂)

^a Les valeurs sont exprimées en % par rapport aux normaux. $p < 0.01$ pour a₁ ; $p < 0.05$ pour b₁ ; p pas significatif pour c₁ ; $p < 0.01$ pour a₂, b₂ et c₂.

Activités comparées de T₄ et de T₃ sur la croissance, le métabolisme basal et l'ARN polymérase du rat thyroïdectomisé

La Fig. 4 illustre les effets comparés de deux doses de T₄ et T₃ : 0.25 et 0.125 µg par 100 g et par jour. La croissance des rats opérés est maintenue respectivement

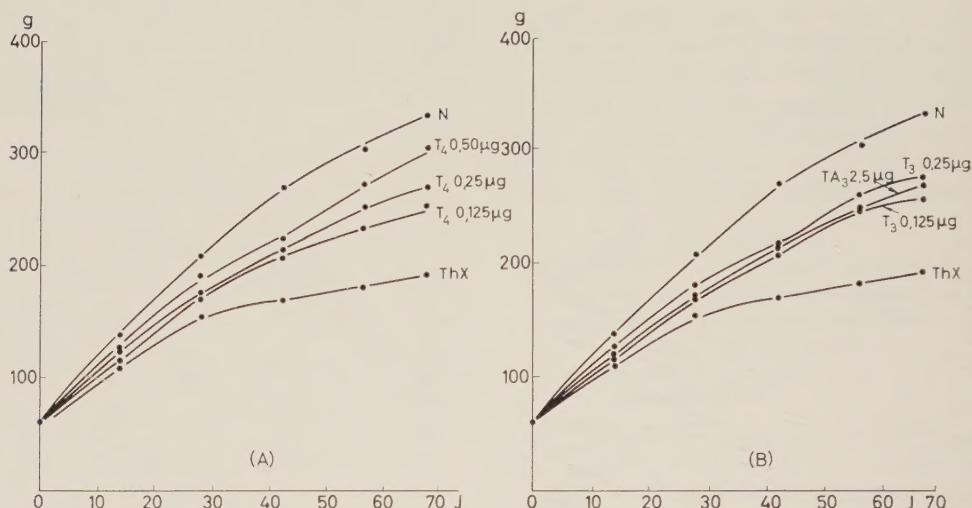


FIG. 4. Croissance pondérale des rats normaux (N), thyroïdectomisés (Thx) ou traités. Partie A: T_4 (0.25 ou 0.125 $\mu\text{g}/100 \text{ g/jour}$)—; partie B: T_3 (0.25 et 0.125 $\mu\text{g}/100 \text{ g/jour}$) ou TA_3 (2.5 $\mu\text{g}/100 \text{ g/jour}$).

à 83 et 77% de la normale pour ces deux quantités de T_4 soit $270 \text{ g} \pm 39$ et $253 \text{ g} \pm 43$ et à 81 et 76% pour T_3 , soit $275 \text{ g} \pm 42$ et $256 \text{ g} \pm 55$. Les différences entre ces valeurs ne sont pas significatives statistiquement. Le métabolisme basal après 8 semaines de traitement est égal à 89% et 82% avec T_4 et 88 et 80% avec T_3 . Enfin l'ARN polymérase atteint 86% et 60% de

la normale avec T_4 et 86 et 68% avec T_3 (Tableau 3).

Effet de T_4 sur la croissance, le métabolisme basal et l'ARN polymérase du rat hypophysectomisé et thyroïdectomisé

La croissance du rat hypophysectomisé et thyroïdectomisé (Hx-Thx) s'arrête immédiatement après l'ablation de l'hypophyse ; l'administration quotidienne de 0.25 μg par 100 g de T_4 n'a aucun effet sur le poids de ces animaux (Fig. 5) ; au contraire, la consommation d'oxygène est augmentée d'une manière significative puisqu'elle passe de 54% chez les témoins opérés à 64% chez les animaux recevant T_4 . En outre, l'activité ARN polymérasique est plus fortement diminuée chez HX-Thx puisqu'elle est égale à 39% de celle des normaux, que chez les animaux thyroïdectomisés seulement chez qui elle atteint 74% de celle des animaux de référence. Le traitement à l'hormone thyroïdienne stimule chez Hx-Thx l'activité de l'ARN polymérase qui passe de 39% à 56%.

TABLEAU 3
CONSOMMATION D'OXYGÈNE ET ACTIVITÉ ARN
POLYMÉRASIQUE CHEZ LE RAT SOUMIS À
DIVERS TRAITEMENTS 7 ET 10 SEMAINES
APRÈS THYROÏDECTOMIE^a

Traitement	Métabolisme basal	ARN polymérase
Normaux	100	100
Thyroidectomisés (Thx)	54 (a ₁)	48 (a ₂)
Thx + T_4 0.5 μg	93 (b ₁)	90 (b ₂)
Thx + T_4 0.25 μg	89 (c ₁)	86 (c ₂)
Thx + T_4 0.125 μg	82 (d ₁)	60 (d ₂)
Thx + T_3 0.25 μg	88 (e ₁)	86 (e ₂)
Thx + T_3 0.125 μg	80 (f ₁)	68 (f ₂)
Thx + TA_3 2.5 μg	94 (g ₁)	66 (g ₂)

^a Les valeurs sont exprimées en % par rapport aux normaux. $p < 0.01$ pour a₁ ; $p < 0.05$ pour b₁ et c₁ ; $p < 0.01$ pour d₁ ; $p < 0.05$ pour e₁ ; $p < 0.01$ pour f₁ ; p pas significatif pour g₁ ; $p < 0.01$ pour a₂ ; p pas significatif pour b₂ et c₂ ; $p < 0.01$ pour d₂ ; $p < 0.05$ pour e₂ ; $p < 0.01$ pour f₂ et g₂.

Rapport entre l'état thyroïdien et les oxydophosphorylations

Le contrôle respiratoire (R.C.), qui est le rapport entre la vitesse de consommation

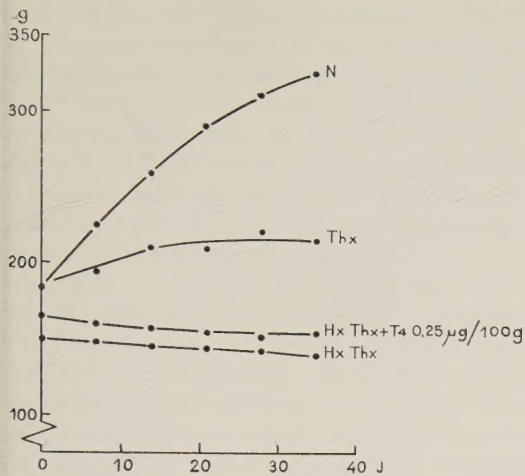


FIG. 5. Courbes illustrant la croissance pondérale des rats normaux (N), thyroïdectomisés (Thx), hypophysectomisés-thyroïdectomisés (Hx-Thx) et hypophysectomisés-thyroïdectomisés recevant 0.25 μg par 100 g de T_4 .

d'oxygène des mitochondries placées dans l'état 3 (avec ADP) et l'état 4 (sans ADP), ne diffère pas de façon significative en présence de succinate 6.6 mM comme substrat, quelle que soit l'origine des préparations particulières hépatiques. Sur un grand nombre d'expériences, les R.C. sont compris entre 4 et 6, soit une moyenne de 4.6 ± 0.7 pour les normaux et 4.7 ± 0.5 pour les Thx, mais les différences entre témoins et opérés ne sont pas significatives statistiquement. Tout au plus peut-on noter

TABLEAU 4
CONSOMMATION D'OXYGÈNE ET ACTIVITÉ ARN
POLYMÉRASIQUE CHEZ LE RAT 5 SEMAINES
APRÈS HYPOPHYSECTOMIE ET THYROÏDECTOMIE^a

Traitement	Métabolisme basal	ARN polymérase
Normaux	100	100
Thyroïdectomisés (Thx).	65 (a_1)	74 (a_2)
Hypophysect.-Thy- roïdect. (Hx-Thx)	54 (b_1)	39 (b_2)
Hx-Thx + T_4 0.25 μg	63 (c_1)	56 (c_2)

^a Les valeurs sont exprimées en % par rapport aux normaux. $p < 0.01$ pour a_1 , b_1 , et c_1 , ainsi que pour a_2 , b_2 et c_2 .

un contrôle respiratoire légèrement supérieur chez les animaux thyroïdectomisés.

Effet calorigénique de l'adrénaline

Les courbes de la Fig. 6 traduisent l'effet calorigénique de l'adrénaline où la consommation d' O_2 est indiquée en ml par 100 g de poids de rats, en fonction du temps en heures. L'administration d'adrénaline provoque une élévation rapide et importante, mais fugace, de la respiration des rats normaux. Par contre, chez les rats thyroïdectomisés, il n'y a pratiquement pas de changement, ce qui confirme les résultats publiés antérieurement (Swanson, 1956). L'effet calorigénique réapparaît chez les rats thyroïdectomisés qui reçoivent 0.5 μg de

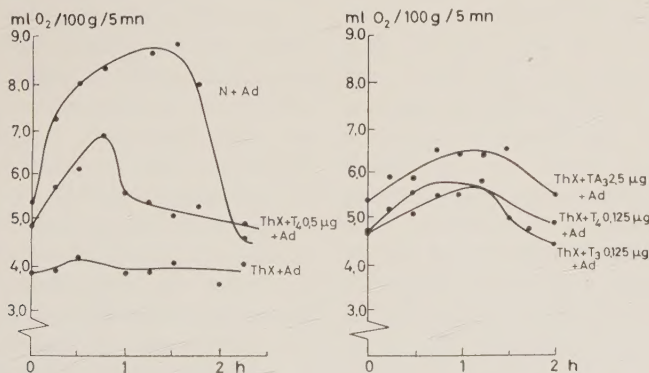


FIG. 6. Courbes illustrant la consommation d'oxygène après une injection de 70 $\mu\text{g}/100$ g d'adrénaline chez des rats normaux (N), thyroïdectomisés (Thx) et thyroïdectomisés traités chroniquement avec T_4 (0.5 et 0.125 $\mu\text{g}/100$ g/jour), T_3 (0.125 μg) ou TA_3 (2.5 μg). (Groupes d'animaux correspondant aux expériences rapportées sur la Fig. 4 A et B).

T₄, mais il reste pourtant inférieur à celui des témoins. Chez les rats traités avec 0.125 µg de T₄ ou de T₃, la réponse à l'adrénaline est encore plus faible. Enfin, chez les animaux injectés chroniquement avec 2.5 µg de TA₃, bien que la consommation initiale d'oxygène soit égale à celle des normaux, après administration d'adrénaline la cinétique de la respiration est inférieure à celle de référence.

DISCUSSION

Les activités biologiques de l'acide 3,5,3'-triiodothyroacétique ont fait l'objet de nombreuses recherches. On a montré que chez l'homme il abaisse le cholestérol sérique, étale la réponse du test au glucose, diminue les lipides totaux du sang, sans incidence notable sur le métabolisme basal (Lerman et Pitt-Rivers, 1956 ; Andrada *et al.*, 1964 ; Boyd et Oliver, 1957). Toutefois chez le rat normal, de fortes doses de TA₃ affectent la cholestérolémie et la calorigénèse (Boyd et Oliver, 1957) et, chez le poulet, l'élévation secondaire du cholestérol circulant est supprimée par l'adjonction de vitamine A (Michel *et al.*, 1959).

L'influence du dérivé acétique sur le métabolisme protidique semble avoir été peu étudiée. Nous retiendrons seulement un travail de Kessler et Krüskemper (1962) selon lequel l'administration de doses relativement élevées de TA₃ s'oppose à la prise de poids du rat adulte normal. Nos recherches montrent, au contraire, que de plus faibles quantités du dérivé iodé favorisent la croissance du jeune rat éthyroïdé lorsque le traitement s'étend sur une longue période. Le désaccord entre ces résultats tient sans doute aux doses différentes utilisées dans les deux expériences car, comme nous avons montré que TA₃ active à la fois l'anabolisme protéique et le métabolisme basal, on peut se demander si aux fortes concentrations, l'effet sur la calorigénèse devenant prépondérant, il ne s'ensuit pas un catabolisme tissulaire accru. Le fait est d'autant plus vraisemblable que chez l'animal intact la sécrétion thyroxinienne doit sans doute persister puisqu'un excès de TA₃ ne freine pas la sécrétion de

thyroestimuline (Courrier *et al.*, 1956). Mais il convient de remarquer que, sur la croissance, TA₃ possède entre 10 à 20% de l'activité des iodothyronines.

La L-thyroxine et la 3,5,3'-triiodo-L-thyronine possèdent, lorsqu'elles sont utilisées à doses physiologiques, des effets non seulement qualitativement semblables, mais aussi quantitativement. Cette observation ne correspond pas aux données classiques sur les propriétés comparées de ces deux hormones quand on les administre à doses plus élevées (Gross et Pitt-Rivers, 1953). Toutefois, nos résultats confirment ceux trouvés par Evans *et al.* (1960, 1964), obtenus dans des conditions un peu différentes. Le fait que T₃ ne soit pas plus active que T₄ dans des expériences de longue durée provient peut-être d'une différence dans leur vitesse de dégradation. En effet, comme le dérivé triodé est plus rapidement métabolisé que le tétraiodé (Robbins et Rall, 1967, p. 383), il n'est pas absolument certain que l'activité soit maximum au moment des mesures.

L'activité de l'ARN polymérase hépatique, qui est fortement diminuée chez le rat thyroïdectomisé, est restaurée par T₃ ou T₄ administrée en une seule fois (Tata et Widnell, 1966) et lors d'un traitement chronique avec de faibles doses d'hormones, et même avec TA₃. Cependant, il semble que la sécrétion d'hormone de croissance dépend de l'état thyroïdien puisqu'on a montré par électrophorèse (Lewis *et al.*, 1965 ; Escobar del Rey *et al.*, 1968) et par dosage radioimmunologique (Daughaday *et al.*, 1967) qu'il existait un déficit en cette hormone dans l'hypophyse de rats recevant du propylthiouracile. Mais, bien que l'on ne possède pas jusqu'ici de données sur la teneur sanguine en hormone somatotrope chez l'animal thyroïdectomisé, on peut supposer qu'elle est réduite au cours de l'hypothyroïdie. Dès lors, il n'est pas impossible que l'activité de l'ARN polymérase soit affectée non seulement par le défaut d'iodothyronines, mais aussi par la diminution de la sécrétion antéhypophysaire, car on a établi qu'elle intervenait aussi sur l'enzyme nucléaire (Widnell et Tata, 1966). Il ressort de nos

résultats que l'hypophysectomie se traduit par une baisse considérable de l'activité ARN polymérisique, plus de 60% en effet par rapport aux témoins de même âge, alors que la thyroïdectomie ne la réduit que de 30%. Or, si l'ablation de la thyroïde devait se traduire après 35 jours (Fig. 5) par une suppression de l'hormone somatotrope, on devrait observer une chute de l'activité de cet enzyme correspondant à celle de l'animal hypophysectomisé. Comme il n'en est rien, il est vraisemblable que l'effet sur l'ARN polymérase du thyroïdectomisé procède surtout du défaut en dérivés iodés. Par conséquent, les effets observés après leur administration et en particulier celui sur l'ARN polymérase doivent être essentiellement rapportés à l'influence des produits halogénés.

Les propriétés oxydophosphorylantes des mitochondries hépatiques obtenues à partir de rats normaux ou thyroïdectomisés ne diffèrent sensiblement pas en présence de succinate comme substrat ; tout au plus peut-on noter avec celles d'animaux hypothyroïdiens un contrôle respiratoire légèrement plus élevé. Il semble que la dissociation des activités sur la protéinogénèse et sur la respiration, comme il ressort de nos expériences, n'est guère en faveur d'une action primaire qui serait localisée au niveau nucléaire et qui se répercuterait ensuite sur les mitochondries, puisque la restauration de l'activité ARN polymérisique est incomplète et les changements sur les réactions mitochondriales mineurs. Nos résultats ne permettent cependant pas de conclure de façon certaine à l'autonomie des deux phénomènes par suite de l'intervention chez l'animal des mécanismes métaboliques de régulation et de contrôle.

L'effet calorigénique de l'adrénaline, qui fait défaut chez les rats thyroéoprives, réapparaît lorsqu'on leur administre des hormones thyroïdiennes. Swanson a trouvé que, chez des rats hypothyroïdiens recevant des quantités relativement élevées de thyroxine, la réponse à l'adrénaline est proportionnelle à la dose utilisée. Nos résultats montrent que des concentrations plus faibles de phénols iodés, bien que ramenant le métabolisme basal au voisinage de la

normale, ne rétablissent que partiellement l'effet calorigénique de l'adrénaline. Ce dernier est semblable quantitativement avec T_4 et T_3 quand elles sont injectées en petites quantités. Il est donc possible que différentes activités enzymatiques impliquées dans ce phénomène ne soient pas entièrement rétablies. Krishna *et al.* (1968) ont montré récemment que l'action lipolytique de la noradrénaline *in vitro* est très faible chez les rats thyroéoprives, mais qu'elle dépasse la normale lorsqu'on leur administre T_3 . Ils constatent également que chez les rats thyroïdectomisés l'activité adénylcyclasique est diminuée, alors qu'elle est augmentée chez les animaux hyperthyroïdiens. L'ensemble de ces faits permet de supposer que les hormones thyroïdiennes activent la synthèse de l'adénylcyclase. Nos essais seraient en faveur d'une telle hypothèse. Il n'est donc pas impossible que les iodothyronines agissent d'une part en favorisant la formation des ARN messagers et facilitent la biosynthèse de certains enzymes spécifiques comme l'adénylcyclase, mais que d'autre part elles affectent directement les réactions oxydophosphorylantes.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDRADA, J. A., RADZYMSKI, D., OTEIZA, M. L., ET BORNAO, O. (1964). Action of TRIAC on carbohydrates and blood lipids. *Medicina (Buenos Aires)* **24**, 17-21.
- BARGETON, D., ET KRUMM-HELLER, C. (1948). Détermination du métabolisme des petits animaux par courts intervalles de temps. *C. R. Soc. Biol.* **142**, 899-903.
- BOYD, G. S., ET OLIVER, M. F. (1957). Effects of thyroxine analogs on lipid and lipoprotein metabolism. *Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss.* **13**, 384-395.
- BURTON, K. (1956). A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. J.* **62**, 315-322.
- BUSCH, S., CHAMBON, P., MANDEL, P., ET WEILL, J. D. (1962). The effect of partial hepatectomy on the ribonucleic acid polymerase of rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **7**, 255-258.
- COURRIER, R., ROCHE, J., MICHEL, O., MICHEL, R., ET COLONGE, R. A. (1956). Sur la régulation hormonale de la fixation thyroïdienne des iodures et sur la pénétration des hormones

- thyroïdiennes dans l'hypophyse. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **38**, 1245-1252.
- DAUGHADAY, W. H., PEAKE, G. T., BIRGE, C. A., ET MARIZ, I. K. (1967). The influence of endocrine factors on the concentration of growth hormone in rat pituitary. *Int. Symp. Growth Horm.* Milan 1967, pp. 238-252. Excerpta Medica, Amsterdam.
- ESCOBAR DEL REY, F., MORREALE DE ESCOBAR, G., JOLIN, T., ET LOPEZ-QUIJADA, C. (1968). Effects of small doses of thyroid hormones on thyroid weight in hypothyroid rats. *Endocrinology* **83**, 41-50.
- EVANS, E. S., ROSENBERG, L. L., ET SIMPSON, M. E. (1960). Relative sensitivity of different biological responses to thyroxine. *Endocrinology* **66**, 433-440.
- EVANS, E. S., ROSENBERG, L. L., EVANS, A. B., ET KONEFF, A. A. (1964). Relative sensitivity of different biological responses to small quantities of thyroxine and triiodothyronine. *Endocrinology* **74**, 770-779.
- GROSS, J., ET PITT-RIVERS, R. (1953). 3,5,3'-Triiodothyronine. 2. Physiological activity. *Biochem. J.* **53**, 652-657.
- HOCH, F. L. (1962). Biochemical actions of thyroid hormones. *Physiol. Rev.* **42**, 605-673.
- ISSEKUTZ, B. V., ET HARANGOZO-OROSZY, M. V. (1942). Über Beeinflussung der Wirkung von Adrenalin auf den Gasstoffwechsel durch die Schilddrüse und Sympathicolytica. *Naturwissenschaften Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **199**, 292-311.
- KESSLER, F. J., ET KRÜSKEMPER, H. L. (1962). Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Thyroxin, Trijodthyronine, Trijodthyroessigsäure und Trijodthyropropionsäure. *Acta Endocrinol.* **40**, 459-471.
- KRISHNA, G., HYNIE, S., ET BRODIE, B. B. (1968). Effects of thyroid hormones on adenyl-cyclase in adipose tissue and on free fatty acid mobilization. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **59**, 884-889.
- LERMAN, J., ET PITT-RIVERS, R. (1956). Physiologic activity of triiodo- and tetraiodothyroacetic acid in human myxedema. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **16**, 1470-1479.
- LEWIS, U. J., CHEEVER, E. V., ET VANDERLAAN, W. P. (1965). Alteration of the proteins of the pituitary gland of the rat by estradiol and cortisol. *Endocrinology* **76**, 362-368.
- MICHEL, R., ET LEBLANC, A. (1969). Synthèse et activités biologiques des dérivés thyroïdiens et adrénérgiques. IX. Influence des hormones thyroïdiennes et de leurs métabolites acétiques sur la respiration mitochondriale. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **51**, 355-372.
- MICHEL, R., CABANNE, F., ET TRUCHOT, R. (1959). Influence de l'association des hormones thyroïdiennes avec diverses substances sur le cholestérolémie du poulet. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **41**, 1566.
- NAKAYAMA, K. (1925). Das Zusammenwirken von Schilddrüse und Nebenniere, geprüft am respiratorischen Stoffwechsel. *Biochem. Z.* **155**, 387-412.
- ROBBINS, J., ET RALL, J. E. (1967). In "Hormones in Blood" (C. H. Gray et A. L. Bacharach, éd.), pp. 383-490. Academic Press, New York.
- ROCHE, J., RALL, J. E., MICHEL, R., MICHEL, O., ET VARRONE, S. (1962). Corrélations entre les effets des hormones thyroïdiennes sur les mitochondries hépatiques, leur fixation et leur métabolisme. *Biochim. Biophys. Acta* **56**, 188-190.
- SCHAEFFER, G., ET THIBAUT, O. (1945). Recherches sur les facteurs hormonaux de la régulation thermique. Effets de l'adrénaline sur les échanges en fonction de l'activité thyroïdienne. *Compt. Rend. Soc. Biol.* **139**, 855-856.
- SCHNEIDER, W. C., ET HOGEBOOM, G. H. (1950). Intracellular distribution of enzymes. V. Further studies on the distribution of cytochrome c in rat liver homogenates. *J. Biol. Chem.* **183**, 123-128.
- SWANSON, H. E. (1956). Interrelations between thyroxine and adrenalin in the regulation of oxygen consumption in the albino rat. *Endocrinology* **59**, 217-225.
- TATA, J. R., ET WIDNELL, C. C. (1966). Ribonucleic acid synthesis during the early action of thyroid hormones. *Biochem. J.* **98**, 604-620.
- TATA, J. R., ERNST, L., LINDBERG, O., ARRHENIUS, E., PEDERSEN, S., ET HEDMAN, R. (1963). The action of thyroid hormones at the cell level. *Biochem. J.* **86**, 408-428.
- WIDNELL, C. C., ET TATA, J. R. (1964). A procedure for the isolation of enzymically active rat liver nuclei. *Biochem. J.* **92**, 313-317.
- WIDNELL, C. C., ET TATA, J. R. (1966). Additive effects of thyroid hormone, growth hormone and testosterone on deoxyribonucleic acid-dependent ribonucleic acid polymerase in rat liver nuclei. *Biochem. J.* **98**, 621-629.

